Keywords: preventive vaccination, immunity, immunization, calves, cattle

Литература

1. Дудников А.И., Борисов В.В., Дудников С.А. Противоящурный иммунитет и практические достижения в области противоящурной защиты // Пробл. зооінженерії та вет. Медицини: зб. наук. прац. - Харьків, 2007. - Вип.15(40). – Ч.2, – т.1. – С. 116-120.

2. Михалишин В.В., Мамков Н.С. Адъюванты и их использование // Тр. Федерального центра охраны здоровья ж-ных. - Владимир, 2008. – Т.6. – С. 340-371.

3. Early antibody responses of cattle for foot-and-mouth disease quadrivalent double oil emulsion vaccine / P.K. Patil, J. Bayry, S.P. Nair [et al.] // J. Vet. Microbiol. - 2002 – Vol. 87.- P. 103–109

4. Evaluation of different adjuvants for foot-and-mouth disease vaccine containing all the SAT serotypes / M. Cloete, B. Dungu, L.I. Van Staden [et al] // J Vet Res. – 2008. – Vol. 75, N 1. – P. 17-31

5. Hunter P. Vaccination as a means of control of foot-and-mouth disease in sub-saharan Africa // Vaccine. – 1998. – Vol. 16, N 2-3. – P. 261-264.

Контактная информации об авторах для переписки

Кременчугская Светлана Ревдитовна,ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение» Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), 600900 г. Владимир, мкр. Юрьевец, Институтский городок, 32, кв.41, д.т. 8 (4922) 26-36-64; м.т. 89107745875; e-mail: kremenchugskaya@arriah.ru

Гуленкин В.М., ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение» Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

УДК 619:572:636.22/.28

Криворучко С.В., Абакин С.С., Дубравная Г.А.

(ГНУ Ставропольского НИИ животноводства и кормопроизводства)

ВИРУС ИММУНОДЕФИЦИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ХОЗЯЙСТВАХ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ

Ключевые слова: вирус иммунодефицита крупного рогатого скота (ВИКРС), ретровирусы, реакция иммунодиффузии (РИД), полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Болезни крупного рогатого скота – важнейшая область ветеринарной науки. Большое внимание привлекала роль ретровирусов в патологии КРС. Еще в начале 70-х гг. был открыт ретровирусный возбудитель лейкоза коров (вирус бычьего лейкоза, BLV). В настоящее время этот ретровирус относят к роду дельтаретровирусов (в этой же группе находится и вирус человека ВТЛЧ). Примерно в тоже время был выделен еще один вирус КРС, роль которого в патологии окончательно не ясна до сих пор. В конце 80-х – начале 90-х гг. он был идентифицирован, как лентивирус, родственный ВИЧ и обозначен как вирус бычьего иммунодефицита (ВБИ) или вирус иммунодефицита крупного рогатого скота (ВИКРС).

Впервые ВБИ был выделен из крови коровы с повышенным лимфоцитозом, прогрессирующей слабостью и истощением. При экспериментальном заражении телят у них появлялись противовирусные антитела, и развивалась гиперплазия лимфатических узлов (Flaming K.,Van der Maaten et al 1993).

Имеются только отдельные сообщения о выявлении ВБИ на территории Российской Федерации, что не позволяет сделать объективные выводы о степени его распространения в популяции крупного рогатого скота (Колотвин В.В. и др. 2006, Федоров Ю.Н., Верховский А.О., 1996). Получение информации о циркуляции вирусов в популяциях домашних животных является достаточно важным для обеспече-

ния здоровья КРС и безопасности продуктов питания.

Воздействие вируса иммунодефицита на организм КРС недостаточно изуче-но. В связи, с чем возникает острая необходимость в изучение специфики путей передачи, генеза болезни, расшифровка иммунопатологических процессов в больном организме, особенности патоморфологического проявления, пути и подходы оздоровления стад.

Мы поставили перед собой задачу изучить эпизоотическую ситуацию по распространению вируса иммунодефицита крупного рогатого скота (ВИКРС) и интенсивность эпизоотического процесса среди больных и инфицированных вирусом лейкоза коров в хозяйствах Ставропольского края.

Серологические исследования проводили при помощи набора реагентов ФГУП «Курская биофабрика – фирма "Биок"», учет реакции иммунодиффузии в агаровом геле через 48 часов (визуально). При постановке иммуноферментного анализа пользовались тест-системой ИФА производства НПО «Нарвак» на анализаторе иммуноферментных реакций АИФР-01 «Униплан» с последующим компьютеризированным вычислением коэффициента (пакет программ MS Office).

Для выделения ДНК использовали готовые наборы реагентов DiatomTM DNA Prep 100 (ООО «Лаборатория Изоген»).

Для постановки ПЦР использовали набор реагентов GenPak R DNA PCR test BLV для обнаружения ДНК возбудителя лейкоза крупного рогатого скота (ООО «Лаборатория Изоген»).

Из представленных в базах данных EMBL, GenBank и DDBJ материалов, в которых содержаться все известные данные о нуклеотидных последовательностях генома и отдельных генов вируса иммунодефицита крупного рогатого скота, были подобраны праймеры, фрагменты которых могут быть маркерами для детекции провируса ВБИ:

gag1 (5´-GTCTTCCCACATCCGTAAC ATCTCCT-3´)

gag2 (5´-CCCCAGGTCCCATCAACAT TCATCAG-3´)

Праймеры, синтезированные на синтезаторе ASM – 102 ("Биоссет", Новосибирск) и очищенные посредством электрофореза в ПААГ, были получены от фирмы "Синтол" (Россия).

В качестве положительного контроля на ВБИ использовались образцы ДНК, выделенной из инфицированной культуры клеток легкого эмбриона быка (FBL-ВБИ).

Полимеразную цепную реакцию для выявления провирусной ДНК ВБИ проводили в оригинальных пробирках «Мастер-Микс» набора GenPak PCR Core («Лаборатория Изоген», Россия).

В необходимое количество пробирок добавляли 10 мкл ПЦР-растворителя. После полного растворения сухого содержимого пробирок в них добавляли по 5 мкл пробы ДНК из исследуемых образцов и по 1 мкл каждого праймера gag1 и gag2. После этого содержимое всех пробирок перемешивалось путем встряхивания на вортексе. Затем в пробирки добавлялось по 2 капли минерального масла (20-25 мкл). Пробирки центрифугировали 10 сек при 2000 оборотах в минуту. После чего смесь помещали в амплификатор «Терцик» и проводили амплификацию по выбранной программе:

- 1 этап – 94°С – 3 мин (1 цикл),
- 2 этап – 94°С – 45 сек, 58°С – 45 сек, 72°С – 70 сек (45 циклов),
- 3 этап – 72°С – 4 мин (1 цикл).

Для регистрации результатов использовали метод электрофореза реакционных смесей в 1,5%-м агарозном геле. Гель окрашивали бромистым этидием, путем добавления последнего непосредственно в гель до конечной концентрации 0,5мкг/мл.

Электрофорез проводили при напряженности электрического поля 5 В/см. Детекцию осуществляли в ультрафиолетовом излучении с длиной волны 260нм (рис.1).

По результатам исследований, проведенных в 4 хозяйствах, 3 районов Ставропольского края, из 1265 голов крупного рогатого скота в РИД 599 прореагировали положительно к ВЛ. Инфицированность поголовья составила в среднем 47,4% с колебаниями по хозяйствам от 19,1 до 85,3%.

От положительно и отрицательно реагирующих животных полученные пробы крови (п=355) были исследованы в ПЦР для выявления провирусной ДНК возбудителей лейкоза и иммунодефицита КРС.

Во всех четырех хозяйства выявлены ретровирусные инфекции, вызванные как ВИКРС, так и ВЛКРС. Были обнаружены животные, зараженные обоими вирусами, или одним из них, или свободные от инфекции. Полученные результаты приведены в таблице 1.

Из 355 отобранных образцов 130 (36,6%) прореагировали положительно:

- 59 пробах выявлен провирус ВЛКРС

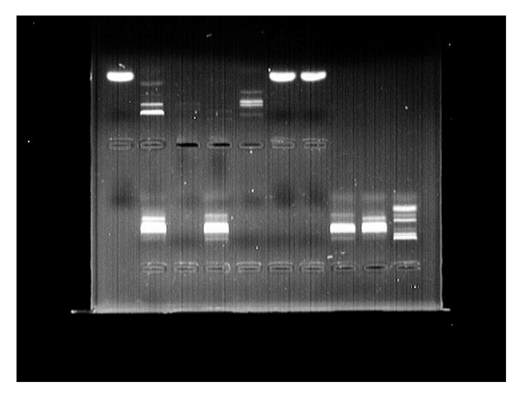


Рисунок 1. Результаты ПЦР при использовании праймеров gag1 и gag2:
1- положительный контроль, 2- отрицательный контроль, 3, 7, 8 – положительные пробы, 4, 5, 6 – отрицательные пробы, 9- маркер молекулярного веса.

Таблица 1. Результаты исследований крупного рогатого скота на ретровирусные инфекции (ВЛКРС и ВИКРС)

Хозяйства	ПЦР		
	ВЛКРС пол.	ВИКРС пол.	ВЛКРС + ВИКРС
Хозяйство 1	30		
	13	6	11
Хозяйство 2	40		
	14	15	11
Хозяйство 3	26		
	16	3	7
Хозяйство 4	34		
	16	4	14

(45,3%);

- 43 пробах выявлен провирус ВЛКРС и ВИКРС (33,1%);

- 28 пробах выявлен провирус ВИКРС (21,5%)

Степень коинфицированности ВИКРС и ВЛКРС из 355 обследованных животных составила 12,1%.

Заключение.

Проведенные исследования впервые в Ставропольском крае выявили вирус иммунодефицита крупного рогатого скота. Установлена высокая степень (20,0%) распространения этой инфекции в стадах региона.

Выявление животных, зараженных обоими вирусами (как ВИКРС, так и ВЛКРС), или одним из них, или свободных от инфекции, позволяет предполо-жить, что эти инфекции сопутствуют друг другу.

Необходимы дополнительные исследования с использованием вирусологических, иммунологических и молекулярно – генетических методов для определения роли вируса иммунодефицита в патогенезе лейкоза крупного рогатого скота.

Резюме: впервые в хозяйствах Ставропольского края установлено наличие в организме крупного рогатого скота вируса иммунодефицита, определена интенсивность эпизоотического процесса среди больных и инфицированных вирусом имму-нодефицита и вирусом лейкоза коров.

SUMMARY

For the first time in economies of Stavropol territory the availability in an organism of horned cattle of a immunodeficiency virus is established, epizootic process intensity amond sick and infected by a immunodeficiency virus and bovine leikosis virus cows is determined.

Keywords: immunodeficiency virus of horned cattle, retroviruses, immunodiffusious (READ), polymerase chain reaction (PCR).

Литература

1. Федоров Ю.Н. Вирус иммунодефицита крупного рогатого скота. Ю.Н. Федоров, О.А. Верховский. Ветеринария. - М., 1996. - №10. - С.3-6.

2. Колотвин В.В. Выявление вируса иммунодефицита крупного рогатого ско-та в Московской области. Колотвин В.В., Капитонов А.В., Абакин С.С. и др. Российский ветеринарный журнал (сельскохозяйственные животные). - М., 2006. - №2. - С.18-20.

3. Flaming K., Van Der Maaten M., Whetstone C. 1993. The eaect of bovine immunode/Eciency-like virus infection on immune function in experimentally infected cattle. Veterinary Immunology and Immunopathology 36, 91-105.

Контактная информации об авторах для переписки

Криворучко Светлана Васильевна – научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, биохимии и общей химии; тел. 8(8652)71-72-18, E-mail: gugelika@yandex.ru

Абакин Сергей Стефанович – заведующий отделом ветеринарной медицины ГНУ Ставропольского НИИ животноводства и кормопроизводства, кандидат ветеринарных наук;

Дубравная Галина Александровна - научный сотрудник лаборатории инфекционных, незаразных болезней и патологии обмена веществ, кандидат сельскохозяйственных наук.

УДК 619:616.9:616.2-084-053.2

Сисягин П.Н., Сисягина Е.П., Реджепова Г.Р., Никулин Д.М.

(ГНУ Научно-исследовательский ветеринарный институт Нечернозёмной зоны РФ Россельхозакадемии, г. Нижний Новгород)

СПОСОБ ПРОФИЛАКТИКИ МАССОВЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ТЕЛЯТ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Ключевые слова: телята, массовые респираторные болезни, фитагам, профилактика

Введение

Массовые респираторные болезни молодняка крупного рогатого скота являются чрезвычайно актуальной проблемой современной ветеринарии. В большинстве случаев они протекают как микст-инфекция, обусловленная сложными вирусно-бактериальными ассоциациями с развитием рецидивов и осложнений, что отрицательно сказывается на последующих периодах выращивания животных и получении от них в дальнейшем генетически обусловленного уровня продуктивности.

Более уязвимыми к респираторной патологии являются телята 1-3-месячного возраста, среди которых процент неиммунных животных наиболее высок, несмотря на полный комплекс вакцинопрофилактики.

Широкое распространение, высокий уровень заболеваемости, многофакторный фон, наличие вторичных иммунодефицитов, низкая эффективность лечебно-профилактических мероприятий общепринятыми схемами свидетельствует об актуальности разработки новых экологически безопасных, доступных средств природного происхождения и высокоэффективных способов профилактики и лечения массовых респираторных болезней телят [4, 6].

В последние годы для профилактики респираторной патологии телят применяют экологически безопасные средства природного происхождения, в том числе лекарственные травы и приготовленные на их основе препараты, обладающие широким спектром действия [1, 2, 3, 5].

Целью настоящих исследований является разработка способа профилактики массовых респираторных болезней телят вирусно-бактериальной этиологии с применением средств, полученных из сырья растительного происхождения и иммунной сыворотки крови.

Материалы и методы